

RESOLUTION OENO 8/2006

RECHERCHE ET DOSAGE DES POLYCHLOROPHENOLS ET DES POLYCHLOROANISOLES

L'ASSEMBLEE GENERALE,

VU l'article 2 paragraphe 2 iv de l'accord du 3 avril 2001 portant création de l'organisation internationale de la vigne et du vin

SUR PROPOSITION de la Sous-Commission des méthodes d'analyse et d'appréciation des vins,

DECIDE: d'introduire dans le Recueil des méthodes internationales d'analyse la méthode de type IV suivante :

Titre	Type de méthode
RECHERCHE ET DOSAGE DES POLYCHLOROPHENOLS ET DES POLYCHLOROANISOLES DANS LES VINS, LES BOUCHONS, LES BOIS ET LES BENTONITES UTILISEES COMME PIEGES D'ATMOSPHERE,	IV

1. DOMAINE D'APPLICATION

Tous les vins, les bouchons en liège, bentonites (pièges d'atmosphère) et bois.

2. PRINCIPE

Dosage du 2,4,6-trichloroanisole, du 2,4,6-trichlorophénol, du 2,3,4,6-tétrachloroanisole, du 2,3,4,6-tétrachlorophénol, du pentachloroanisole et du pentachlorophénol en chromatographie en phase gazeuse par injection d'un extrait à l'hexane du vin et à l'éther/hexane des échantillons solides à analyser et étalonnage interne.

3. REACTIFS

Note préalable : tous les réactifs et solvants doivent être exempts des composés à doser listés en 2 au seuil de détection.

- 3.1. Hexane de pureté > 99 %
- 3.2. Ether éthylique de pureté > 99 %
- 3.3. Mélange éther/hexane (50/50 ; v/v)
- 3.4. Produit pur pour étalon interne : lindane (Hexachlorocyclohexane), cas 55963-79-6 ou 2,4-dibromoanisole cas 21702-84-1 de pureté > 99 %
- 3.5. Ethanol pur
- 3.6. Eau distillée et/ou microfiltrée
- 3.7. Solution hydroalcoolique à 50 % vol. placer 50 ml d'éthanol pur (3.5) dans une fiole jaugée de 100 ml (4.9.7) et compléter à 100 ml avec de l'eau distillée (3.6), homogénéiser.
- 3.8. Etalon interne :
 - 3.8.1. Solution mère à 1,5 g/l. Placer 150 mg de lindane ou 2,4-dibromoanisole (3.4) dans une fiole jaugée de 100 ml (4.9.7) compléter avec la solution hydroalcoolique à 50 % volume (3.7) et homogénéiser.
 - 3.8.2. Solution d'étalon interne. Placer 1 ml de la solution mère de lindane ou 2,4-dibromoanisole (3.8.1) dans une fiole jaugée de 100 ml (4.9.7), compléter avec la solution hydroalcoolique à 50 % volume (3.7) et homogénéiser.
- 3.9. Produits purs
 - 3.9.1. 2,4,6-trichloroanisole : 99 %, cas : 87-40-1
 - 3.9.2. 2,4,6-trichlorophénol : 99.8 %, cas : 88-06-2
 - 3.9.3. 2,3,5,6-tétrachloroanisole : 98 %, cas : 6936-40-9 (remarque : le produit recherché dans les échantillons est le 2,3,4,6-tétrachloroanisole mais il n'existe pas dans le commerce)
 - 3.9.4. 2,3,4,6-tétrachlorophénol : 99.9 %, cas : 58-90-2
 - 3.9.5. pentachloroanisole : 98 %, cas : 1825-21-1
 - 3.9.6. pentachlorophénol : 98 %, cas : 87-86-5
- 3.10. Solution mère de calibrage à 200 mg/l
Dans une fiole jaugée de 100 ml (4.9.7), placer 20 mg environ des produits purs (3.9.1 à 3.9.6) mais de poids exactement connu (4.7), compléter avec de l'éthanol pur (3.5). Homogénéiser.
- 3.11. Solution intermédiaire de calibrage à 200 µg/l
Dans une fiole jaugée de 50 ml (4.9.8) remplie d'éthanol pur (3.5), ajouter 50 µl de la solution mère de calibrage à 200 mg/l (3.10) à l'aide de la micro-seringue de 100 µl (4.9.1) et homogénéiser.

3.12. Solution fille de calibrage à 4 µg/l

Dans une fiole jaugée de 50 ml (4.9.8) contenant de l'éthanol pur (3.5) ajouter 1 ml de la solution intermédiaire de calibrage à 200 µg/l (3.11) à l'aide d'une pipette de 1 ml (4.9.6). Compléter à 50 ml avec l'éthanol pur (3.5) et homogénéiser.

3.13. Solutions de calibrage. Il est possible de préparer diverses solutions de calibrage à diverses concentrations en rajoutant, à l'aide de la micro-seringue de 100 µl (4.9.1), par exemple 50 µl de la solution fille de calibrage à 4 µg/l (3.12) dans 50 ml de vin pour obtenir un enrichissement de celui-ci de 4 ng/l en substances à doser...

Le même raisonnement peut permettre de préparer des solutions de calibrage de diverses concentrations soit dans des solutions hydroalcooliques pures ou du vin ou encore d'enrichir un milieu d'extraction avec une quantité parfaitement connue de produits purs.

3.14. Bentonite du commerce.

4. MATERIEL

4.1. Chromatographe en phase gazeuse avec injecteur split-splitless couplé à un détecteur à capture d'électrons. (Il est également possible d'utiliser un spectromètre de masse)

4.2. Colonne capillaire de type apolaire : 0,32 mm x 50 m, épaisseur de film 0,12 µm

4.3. Conditions chromatographiques :

4.3.1. Injection en mode "split-splitless" (temps de fermeture des vannes 30 secondes)

4.3.2. Débit gaz vecteur : 30 ml/mn dont 1 ml dans la colonne – Hydrogène U ®² (Il est également possible d'utiliser de l'hélium).

4.3.3. Débit gaz auxiliaire : 60 ml/mn – Azote U ®² (ou argon-méthane)

4.3.4. température du four : - de 40 °C à 160 °C à raison de 2 °C/mn

- de 160 °C à 200 °C à raison de 5 °C/mn
- palier à 220 °C pendant 10 mn

4.3.5. température injecteur : 250 °C

4.3.6. température détecteur : 250 °C

4.4. Acquisition et intégration : l'acquisition se fait sur un ordinateur. Les pics des différents composés identifiés par comparaison avec la référence, sont ensuite intégrés.

- 4.5. Agitateur et barreaux magnétiques.
- 4.6. Vortex avec adaptation pour flacon de 30 ml (4.9.3)
- 4.7. Balance de précision au mg
- 4.8. Râpe de ménage pour rémoulade manuelle ou électrique
- 4.9. Matériel de laboratoire :
 - 4.9.1. Micro Seringue de 100 µl
 - 4.9.2. Micro Seringue de 10 µl
 - 4.9.3. Flacon de 30 ml fermant avec un bouchon à vis et opercule à face téflonée
 - 4.9.4. Pipette bâton de 10 ml graduée au 1/10 de ml
 - 4.9.5. Pipette bâton de 5 ml graduée au 1/10 de ml
 - 4.9.6. Pipette de précision de 1 ml
 - 4.9.7. Fiole jaugée de 100 ml
 - 4.9.8. Fiole jaugée de 50 ml
 - 4.9.9. Ampoule à décanter de 100 ml
 - 4.9.10. Pipettes Pasteur et poire propipette adaptée
 - 4.9.11. Feuille d'aluminium de ménage en rouleau.

5. PREPARATION DE L'ECHANTILLON

- 5.1. Le bouchon est râpé (4.8) en granulés (diamètre < 3 mm)
- 5.2. Le bois est débité avec une tenaille pour obtenir des morceaux de quelques millimètres seulement.
- 5.3. La bentonite (3.14) (30 g par exemple) est étalée sur une feuille d'aluminium (4.9.11) d'environ 30 cm x 20 cm et exposée dans l'atmosphère à analyser pendant 72 heures.

6. MODE OPERATOIRE

6.1. Processus d'extraction

- 6.1.1. Bouchon : dans un flacon de 30 ml (4.9.3), placer 1 g environ de bouchon râpé (5.1) mais de poids exactement connu (4.7)
- 6.1.2. Bois : dans un flacon de 30 ml (4.9.3), placer 2 g environ de morceaux de bois (5.2) mais de poids exactement connu (4.7)
- 6.1.3. Bentonite contrôle : dans un flacon de 30 ml (4.9.3), placer 5 g environ de bentonite (3.14) mais de poids exactement connu (4.7)

- 6.1.4. Bentonite échantillon : dans un flacon de 30 ml (4.9.3), placer 5 g environ de bentonite (5.3) mais de poids exactement connu (4.7)
- 6.1.5. Ajouter 10 ml (4.9.4) de mélange éther/hexane (3.3)
- 6.1.7. Ajouter à la micro-seringue (4.9.1) 50 µl de la solution d'étalon interne (3.8.2)
- 6.1.8. Agiter au vortex (4.6) pendant 3 mn
- 6.1.9. Décanter et récupérer la phase liquide d'éther/hexane dans un flacon de 30 ml (4.9.3)
- 6.1.10. Recommencer l'opération avec 2 fois 5 ml de mélange éther/hexane (3.3)
- 6.1.11. Extrait final : mélanger les 3 phases d'éther/hexane.
- 6.2. Extraction du vin
- 6.2.1. Prélever 50 ml de vin à l'aide de la fiole jaugée (4.9.8)
- 6.2.2. Les placer dans la fiole jaugée de 100 ml (4.9.7)
- 6.2.3. Ajouter à la microseringue (4.9.1) 50 µl d'étalon interne (3.8.2)
- 6.2.4. Ajouter 4 ml (4.9.5) d'hexane (3.1)
- 6.2.5. Effectuer l'extraction à l'aide de l'agitateur magnétique (4.5) durant 5 mn.
- 6.2.6. Décanter en ampoule (4.9.10)
- 6.2.7. Récupérer la phase organique avec l'émulsion dans un flacon de 30 ml (4.9.3) et le vin dans la fiole jaugée de 100 ml (4.9.7)
- 6.2.8. Recommencer l'extraction du vin par 2 ml d'hexane (3.1)
- 6.2.9. Effectuer l'extraction à l'aide de l'agitateur magnétique (4.5) durant 5 mn.
- 6.2.10. Décanter en ampoule (4.9.9)
- 6.2.11. Récupérer la phase organique avec l'émulsion dans un flacon de 30 ml (4.9.3)
- 6.2.12. Mélanger les 2 phases organiques et casser l'émulsion par agitation très lente à l'aide d'un barreau magnétique (4.5) en décantant périodiquement la phase aqueuse, c'est à dire en éliminant la phase aqueuse inférieure à l'aide d'une pipette Pasteur (4.9.10) munie d'une poire propipette.
- Remarque : Il est également possible de casser l'émulsion par centrifugation.
- 6.2.13. Extrait final du vin : il s'agit de l'extrait organique résiduel après décantation du vin et du résidu d'émulsion
- 6.3. Injecter 2 µl de l'extrait final (6.1.11 ou 6.2.13) dans le chromatographe.

7. CALCUL :

$$\text{Concentration du produit} = \frac{\text{Aire du pic du produit}}{\text{Aire du pic de l'étalon interne}} * \text{Coefficient de réponse}$$

Coefficient de réponse = concentration dans la solution de calibrage (3.13) *(Aire du pic de l'étalon interne/ Aire du pic du produit pur dans la solution de calibrage).

Vérification de l'étalonnage tous les deux mois, limite d'acceptation des coefficients de réponse +/- 10 %.

8. RESULTATS

Les résultats sont exprimés en ng/l pour le vin et en ng/g pour les bouchons en liège, les bentonites et les bois.

9. CARACTERISTIQUES DE LA METHODE

9.1. Taux de recouvrement,

Le taux de recouvrement calculé par rapport à des quantités rajoutées dans des bois, de polychloroanisoles et de polychlorophénols de 115 ng/g est de :

- 2,4,6-trichloroanisole : 96 %
- 2,4,6-trichlorophénol : 96 %
- 2,3,4,6-tétrachloroanisole : 96 %
- 2,3,4,6-tétrachlorophénol : 97 %
- pentachloroanisole : 96 %
- pentachlorophénol : 97 %

9.2. Répétabilité des mesures,

Calculées pour chaque produit, les valeurs de répétabilité sont les suivantes :

Dans un bouchon ng/g	Moyenne	Ecart type	répétabilité
2,4,6-trichloroanisole	1,2	0,1	0,3

2,4,6-trichlorophénol	26	3,3	9,2
2,3,4,6-tétrachloroanisole	1,8	0,4	1,2
2,3,4,6-tétrachlorophénol	2,6	0,3	0,9
pentachloroanisole	23,3	2,9	8,1
pentachlorophénol	7,4	1,9	5,4

Dans un bois à 23 ng/g	Ecart type	répétabilité
2,4,6-trichloroanisole	1,9	5,3
2,4,6-trichlorophénol	1,9	5,3
2,3,4,6-tétrachloroanisole	2,6	7,4
2,3,4,6-tétrachlorophénol	3,3	9,3
pentachloroanisole	2,7	7,5
pentachlorophénol	3,6	10,1

Dans un vin à 10 ng/l	Ecart type	répétabilité
2,4,6-trichloroanisole	0,4	1,1
2,4,6-trichlorophénol	2,1	5,9
2,3,4,6-tétrachloroanisole	0,6	1,7
2,3,4,6-tétrachlorophénol	4	11,2
pentachloroanisole	1,2	3,4
pentachlorophénol	6,5	18,2

Dans une bentonite à 15 ng/g	Ecart type	répétabilité
2,4,6-trichloroanisole	0,9	2,5
2,4,6-trichlorophénol	4	11,2
2,3,4,6-tétrachloroanisole	1,2	3,4
2,3,4,6-tétrachlorophénol	5,2	14,6
pentachloroanisole	4,3	12,0
pentachlorophénol	12,1	33,9

9.3. Limites de détection (L.D) et de quantification (L.Q) calculées selon la méthode OIV :

9.3.1. Bois

	L.D en ng/g	L.Q en ng/g
2,4,6-trichloroanisole	0,7	2,4
2,4,6-trichlorophénol	0,6	2,0
2,3,4,6-tétrachloroanisole	0,6	2,0
2,3,4,6-tétrachlorophénol	1,1	3,7
pentachloroanisole	0,4	1,4
pentachlorophénol	0,9	3,1

9.3.2. Bentonite

	L.D en ng/g	L.Q en ng/g
2,4,6-trichloroanisole	0,5	1
2,4,6-trichlorophénol	1	3
2,3,4,6-tétrachloroanisole	0,5	1
2,3,4,6-tétrachlorophénol	1	3
pentachloroanisole	0,5	1
pentachlorophénol	Non det.	Non det.

9.3.3. Bouchon

	L.D en ng/g	L.Q en ng/g
2,4,6-trichloroanisole	0,5	1,5
2,4,6-trichlorophénol	1	2
2,3,4,6-tétrachloroanisole	0,5	1,5
2,3,4,6-tétrachlorophénol	1	2
pentachloroanisole	0,5	1,5
pentachlorophénol	1	2

9.3.4. Vin

	L.D en ng/l	L.Q en ng/l
2,4,6-trichloroanisole	0,3	1
2,4,6-trichlorophénol	1	3
2,3,4,6-tétrachloroanisole	0,3	1
2,3,4,6-tétrachlorophénol	0,3	1
pentachloroanisole	0,5	3
pentachlorophénol	1	3

®² Air liquide